Aus der Inneren Abteilung des Urbankrankenhauses — Berlin
(Direktor: Prof. Dr. Jürgens)

Ueber den Nachweis von Milchsäure bei der aeroben Glykolyse und ihre Beziehung zu den Atemgrößen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der

Medizinischen Doktorwürde

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Berlin

vorgelegt von

Willy Gebert

aus Berlin-Pankow

Unterarzt in der 1. (Pr.) Sanitätsabteilung am Standortlazarett Insterburg (Ostpr.).

Tag der Promotion: 26. September 1934.

Druck von Gebrüder Hoffmann, Charlottenburg, Schillerstr. 44.

601

Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. H. Gocht

Referent: Priv. Doz. Dr. H. W. Bansi

Korreferent: Geheimrat Prof. Dr. v. Bergmann

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Die Lebensprozesse im tierischen Organismus setzen eine stetige Zufuhr von Sauerstoff und Abgabe von Kohlensäure voraus. Dieser Gaswechsel, die Atmung, vollzieht sich entweder zwischen dem umgebenden Medium, Luft oder Wasser, und der lebenden Zelle direkt oder durch Vermittlung des Blutes. Im letzteren Falle wird die äußere Atmung, die den Gasaustausch zwischen dem umgebenden Medium und dem Blut vermittelt, unterschieden von der inneren Atmung, die dem Gaswechsel zwischen Blut und Gewebe dient.

Die meßbaren Größen dieses Atmungsstoffwechsels, die sogen. Atemgrößen sind der pro mg Gewebe und Stunde verbrauchte Sauerstoff Q_{O_2} in cmm, die ausgeschiedene Kohlensäure Q_{CO_2} und der aus beiden berechenbare respiratorische Quotient RQ, das Verhältnis $Q_{CO_2} : Q_{O_2}$. Was die Untersuchungsobjekte anbelangt, so können die Messungen des Atmungsstoffwechsels sowohl am ganzen, unversehrten Organismus oder an künstlich durchströmten, isolierten Organen als auch an dünnen Gewebsschnitten, ja bei hinreichend verfeinerter Technik und geeignetem Material an einzelnen Zellen ausgeführt werden.

Von allen diesen Methoden gewann die Messung des Atmungsstoffwechsels an dünnen Gewebsschnitten besondere Bedeutung, da es mittels der von Warburg angegebenen, weiter unten beschriebenen, relativ einfachen Methodik möglich wurde, nicht nur die Atmung der einzelnen Gewebe zu studieren, sondern auch einen Einblick in einen Teil der übrigen Vorgänge des Zellstoffwechsels zu gewinnen.

Da in der normalen Zelle die Kohlehydrate absolut dominieren, so bedeutet Zellstoffwechsel hauptsächlich Abbau bzw. Aufbau von Kohlehydraten.

Meyerhof (1) zeigte, daß der Grundtypus des allgemeinen Stoffwechselablaufs in 2 Phasen verläuft. In der ersten findet zunächst ohne Hinzutreten von Sauerstoff eine „Vergärung" des Zell-

zuckers zu Körpern vom Typus des Methylglyoxals $CH_3.CO.CHO$ und schließlich in Milchsäure $CH_3.CHOH.COOH$ statt. In der 2. Phase, der eigentlichen „Atmung", kommt es dann bei Anwesenheit von Sauerstoff zu einer vollkommenen Oxydation der entstandenen Zwischenprodukte zu CO_2 und H_2O.

Nach Warburg (2) hat unter anaeroben Bedingungen jede Zelle die Möglichkeit, Milchsäure zu bilden, jedoch ist unter aeroben Bedingungen die Atmung normaler Organzellen groß genug, um die im Spaltungsstoffwechsel entstandene Milchsäure zum Verschwinden zu bringen, sei es durch vollkommene Oxydation zu CO_2 und H_2O oder durch Resynthese zu Glykogen (Meyerhof (3)).

Anders als die normalen Organzellen, das sogenannte stationäre Gewebe, verhält sich das Tumorgewebe. Bei diesem überwiegt auch unter aeroben Bedingungen der Spaltungsstoffwechsel (die Vergärung des Zellzuckers zu Milchsäure) den Atmungsstoffwechsel so weit, daß die Milchsäure nicht durch Oxydation und Resynthese beseitigt werden kann (Warburg (2)). Wenn man in der von Warburg angegebenen Versuchsanordnung (s. u.) einen dünnen überlebenden Gewebsschnitt in Ringerlösung atmen läßt, so erhält man bestimmte Werte für den Sauerstoffverbrauch QO_2, die Kohlensäureproduktion Q_{CO_2} und den aus beiden berechenbaren respiratorischen Quotienten RQ.

Läßt man einerseits stationäres Gewebe, andererseits Tumorgewebe atmen, so ergibt sich aus dem Vorhergesagten, daß die Verschiedenheit des Spaltungs- bzw. Atmungsstoffwechselanteils sich auf die Größe von Q_{CO_2} bzw. RQ auswirken muß. Von der beim Tumorgewebe entstehenden Milchsäure wird nämlich, da sie die stärkere Säure ist, aus dem Bikarbonat der Ringerlösung unter Bildung von Na-Laktat Kohlensäure freigesetzt. Diese freigesetzte Kohlensäure erscheint dann bei der manometrischen Messung nach Warburg (4) als sogenannte Extrakohlensäure, die den wahren respiratorischen Quotienten des atmenden Gewebes zum größeren scheinbaren steigert.

Beim stationären Gewebe verläuft der Glykogenabbau, wenn man die Zwischenstufen nicht berücksichtigt, nach der Formel $C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 = 6\,CO_2 + 6\,H_2O$, d. h. der normale Stoff-

wechsel erfordert die gleiche Menge Sauerstoff, wie die Menge der entstehenden Kohlensäure beträgt.

Dann ist

$$Q_{O_2} = Q_{CO_2} \text{ oder } Q_{CO_2} : Q_{O_2} = RQ = 1.$$

Nach obiger Formel kann also selbst in dem Fall, daß nur Kohlehydrate abgebaut werden, der respiratorische Quotient durch die Atmung nie größer als 1 werden. Nun fanden aber Warburg-Posener-Negelein, Meyerhof-Lohmann, Rosenthal-Lasnitzki und andere Autoren (5, 6, 7), die sich mit dem Atmungsstoffwechsel von stationären Säugetiergeweben unter aeroben Bedingungen beschäftigten, zuweilen Werte für den respiratorischen Quotienten, die über 1 liegen. Es fragt sich daher, ob es sich auch hierbei wie beim Tumorgewebe um eine Milchsäurewirkung handelt, d. h., ob Milchsäure während der Atmung durch Glykolyse entsteht und nun durch das Natriumbikarbonat der Ringerlösung abgefangen wird unter Freiwerden von CO_2.

Seit den Versuchen von Embden und Kraus (8) an künstlich durchströmtem Lebergewebe ist bekannt, daß eine Vergärung des Leberglykogens zu Milchsäure stattfindet. Später ist dann ebenfalls für die in der Warburg-Apparatur atmenden Leberschnitte die glykolytische Wirkung des Lebergewebes durch chemische Milchsäurebestimmung nachgewiesen worden, sei es durch die kolorimetrische Methode nach Mendel-Goldscheider oder titrimetrisch nach Fürth-Charnass (u. a. Meyerhof-Lohmann, Rosenthal-Lasnitzki, Rosenthal (6; 7; 9)). Es ist also höchstwahrscheinlich, daß es sich bei Werten für RQ über 1 wirklich um eine Milchsäurewirkung handelt.

In der Literatur (5; 6; 7) sind bei der Atmung unter aeroben Bedingungen Milchsäurewerte nur angegeben, wenn RQ größer ist als 1 und die gebildete Milchsäure dann manometrisch durch Messung der Extrakohlensäure erfaßt werden kann. Es fehlen jedoch chemische Milchsäurebestimmungen für den Fall, daß RQ kleiner ist als 1. Für die Atmung unter anaeroben Bedingungen sind solche Milchsäurebestimmungen ausgeführt worden, die eine gute Uebereinstimmung mit den manometrischen Werten ergeben. (5; 6; 7; 9).

Wir haben uns deshalb die Frage vorgelegt, ob bei der Atmung von Leberschnitten unter aeroben Bedingungen Milchsäure auch chemisch nachgewiesen werden kann, wenn der respiratorische Quotient kleiner als 1 ist und ob sich irgendwelche Zusammenhänge zwischen der nachgewiesenen Milchsäuremenge und den einzelnen Atemgrößen, Q_{O_2}, Q_{CO_2} und RQ ergeben.

Ueber die zur Klärung dieser Frage angestellten Versuche soll im Folgenden berichtet werden unter gleichzeitiger Verwertung der Nebenbefunde.

Zu den Versuchen wurden weiße Ratten verwandt, deren Gewicht aus Tabelle 1, Spalte 3 ersichtlich ist. Ein Teil der Ratten wurde mit Milch und Brot ernährt, ein anderer Teil hungerte 48 Stunden. Die Tiere wurden dann durch Nackenschlag getötet, die Leber möglichst schnell herauspräpariert und davon Rasierklingenschnitte angefertigt mit einer Schnittdicke von 0,5 mm und darunter. Die genaue Angabe der Methodik der angewandten Warburg-Methode zur manometrischen Messung der Gewebsatmung unter aeroben Bedingungen erübrigt sich, da sie sich genau an die Vorschriften hält, die Krebs in „Oppenheimer-Pinkussen, Die Fermente und ihre Wirkungen" gibt (10).

Sie beruht darauf, daß ein Schnittpaar in 2 Atmungströgen bei gleicher Temperatur, aber verschiedenem Volumen der Suspensionsflüssigkeit („Ringerlösung zur Glykose" nach Warburg mit $2{,}5 \cdot 10^{-2}$ Mole/Liter Natriumbikarbonat und 0,2 % Glukose), bzw. der darüber stehenden Gassäule atmet. Aus den verschiedenen Ausschlägen der mit Brodie'scher Lösung gefüllten Manometer kann dann unter Berücksichtigung der verschiedenen Gefäßkonstanten die veratmete Menge Sauerstoff Q_{O_2} und die entstandene Menge Kohlensäure Q_{CO^2} berechnet werden.

Wir verwandten bei den Versuchen Flüssigkeitsmengen von 6 bzw. 2 ccm für jedes Gefäßpaar und ein Gasgemisch von 5 % CO_2 und 95 % O_2. Die sogenannte Vorbereitungszeit, d .h. die Zeit, die von der Tötung der Tiere bis zum Beginn der Atmungsversuche verging, ist aus Tabelle 2, Spalte 3 ersichtlich und betrug 20—33 Minuten, einschließlich der 15 Minuten, die für den Druck- und Temperaturausgleich in der Versuchsanordnung nötig waren.

Nach Beendigung des Atmungsversuches wurde anschließend die Suspensionsflüssigkeit zur chemischen Milchsäurebestimmung weiter verarbeitet und zwar von jedem Gefäßpaar dasjenige Gefäß mit dem größten Flüssigkeitsvolumen. In unserm Falle stand also 6 ccm Ringerlösung zur Verfügung, die zunächst filtriert und durch Versetzen mit Kupfersulfat und Kalkmilch entzuckert wurde. Eine Entweißung war nicht nötig, da das Filtrat nach der Ausfällung der Kohlehydrate eiweißfrei war (Probe mit Sulfosalizylsäure). Nach der Oxydation der Milchsäure zu Azetaldehyd mittels Kaliumpermanganat, Auffangen des Azetaldehyds in Kaliumbisulfitlösung, Spaltung der Azetaldehyd-Bisulfitverbindung durch sekundäres Natriumphosphat erfolgte die titrimetrische Bestimmung der gebunden gewesenen Bisulfitlösung mittels Jodlösung und daraus die Berechnung der ursprünglich vorhandenen Milchsäuremenge. Die genaue Angabe dieser Milchsäurebestimmung nach Fürth-Charnass-Clausen findet sich bei Lehnartz (11).

Die Glykogenbestimmungen wurden am chemischen Institut der Inneren Abteilung des Urbankrankenhauses nach Pflüger (12) ausgeführt.

Zur Bestimmung des Quotienten Frischgewicht : Trockengewicht der Leber wurde das betreffende Leberstück bei 100 Grad bis zur Konstanz getrocknet, was durchschnittlich 4—5 Tage dauerte.

Bevor wir die Beziehungen zwischen Atemgrößen und Milchsäurebildung erörtern, soll zunächst über die durch die Versuche gewonnenen Nebenbefunde berichtet werden.

Tabelle 1 zeigt die Beziehungen zwischen Ernährungsart, Rattengewicht, Lebergewicht, Quotient von Frisch- zu Trockengewicht der Leber und Leberglykogen, geordnet nach Ernährungsart und Tiergewicht.

Der Vergleich zwischen Tiergewicht und Lebergewicht (Spalte 3 und 4) bei gleicher Ernährung bestätigt auch in diesen Versuchen die von anderen Autoren schon beobachtete Tatsache, daß zwar bei starken Unterschieden des Tiergewichts sich das Lebergewicht entsprechend verhält, daß aber das Lebergewicht bei ungefähr gleich schweren Tieren durchaus verschieden ist (Forsgren u. a. (13)).

Dagegen ergibt das Lebergewicht bei Hungertieren, ausgedrückt in Prozenten des Körpergewichts (Spalte 5), einen niedrigeren Durchschnittswert als bei ernährten Tieren (3,46 % : 4,13 %). Zu demselben Ergebnis kam Forsgren (13) bei Versuchen an der Kaninchenleber.

Die Literaturangaben für den Quotienten Frischgewicht: Trockengewicht betragen bei Rattenleberschnitten 5,0 (Krebs, Takane (10, 14)),. während in unsern Versuchen (Spalte 6), allerdings nicht bei den zum Versuch verwandten Leberschnitten, sondern bei Leberstücken von ca. 1 g Gewicht, der Quotient zwischen 3,4 und 5,9 schwankt, wobei der Durchschnitt für Hungerleber 4,33 und für die Leber der ernährten Tiere 3,66 beträgt. Aehnliche Werte fanden Vandin, Javallier, Allaire und Schirmer (15) für die Hundeleber, bei der der Durchschnittswert des Quotienten für 48-Std.-Hungerleber 3,35, für die Leber normalernährter Hunde 3,74 beträgt.

Für die genaue Beantwortung der Frage, ob Beziehungen bestehen zwischen dem Quotienten Frischgewicht: Trockengewicht und der Ernährungsart oder dem Leber- oder Tiergewicht ist die Zahl der Versuche nicht ausreichend.

Als Durchschnittswert für das Leberglykogen (Spalte 7) ergab sich bei den hungernden Tieren 0,269 g %, bei den mit Milch und Brot ernährten 3,002 g % bzw. 2,895 g % (Tab. 2)*); entsprechende, durch die Ernährungsart bedingte Unterschiede fanden Fisher-Lackey, Forsgren, Holzmann, Hynd-Rotter (16; 13; 17, 18) und andere. So geben z. B. Lawrence und Mc Cance (19) für weiße junge Standardratten (80—150 g) Durchschnittswerte an, die mit unsern Werten recht gut übereinstimmen: 0,3 g % für 48-Std.-Hungerratten und 2,3 g % für mit Milch und Brot ernährte Tiere.

Die erheblichen individuellen Unterschiede im Leberglykogengehalt bei gleicher Ernährung, die sich aus den Einzelversuchen ergeben, werden auch von anderen Autoren bestätigt (Untersuchungen an Ratten und anderen Warmblütern) (Forsgren, Donaldson, Rathery, Kurilsky und Gibert) (13, 20, 21).

*) Die Versuche Nr. 14, 20 und 24 sind nur in Tabelle 2 aufgenommen, weil die Werte für Lebergewicht und Quotient Frischgewicht: Trockengewicht fehlen.

Eine interessante Uebereinstimmung mit einer neueren Arbeit von Greisheimer (22) über Glykogen- und Fettbildung bei Ratten mit kohlehydratfreier Ernährung ergibt sich aus den Glykogenwerten der Hungerratten. Greisheimer fand bei erwachsenen Hungerratten (Karenz 48 Std.) bei männlichen Tieren 0,513 g % Glykogen und bei weiblichen 0,137 g % im Durchschnitt. Bei Betrachtung der Glykogenwerte unserer Hungerratten fallen zwei Ergebnisgruppen auf, Nr. 30, 35 mit dem Durchschnittswert von 0,621 g % und Nr. 25, 27, 28, 29, 34 mit durchschnittlich 0,129 g %. Eine Prüfung des Geschlechts der Versuchstiere unterblieb, doch liegt die Vermutung nahe, daß die erhaltenen Glykogenwerte eine Bestätigung der Ergebnisse von Greisheimer sind, und es sich in der ersten Gruppe um männliche Tiere, in der zweiten Gruppe um weibliche Tiere gehandelt hat. Ueber entsprechende Untersuchungen bei normal ernährten Tieren ist mir aus der Literatur nichts bekannt, doch ist es sehr wohl möglich, daß auch hier erhebliche Unterschiede im Glykogengehalt durch den Geschlechtsunterschied bedingt werden.

Eine Beziehung des Leberglykogengehaltes zum Tiergewicht oder zum Lebergewicht oder zum Quotienten Frischgewicht : Trockengewicht läßt sich an Hand der vorliegenden Versuche nicht feststellen.

Tabelle 2 zeigt die Beziehungen zwischen Glykogengehalt der Leber, Sauerstoffverbrauch und respiratorischem Quotienten der Leberschnitte und der nachgewiesenen Milchsäuremenge.

Der Sauerstoffverbrauch der Leberschnitte (Spalte 5) läßt in den einzelnen Versuchen keine eindeutigen Beziehungen zur Ernährungsart erkennen und ist sowohl bei den Milch-Brot-Tieren als auch bei den Hungertieren stark schwankend, wenn auch der Durchschnittswert für die Hungerleber größer ist als der der normalen Leber (15,15 : 12,15). Eine Begründung für diese Tatsache soll weiter unten gegeben werden.

Es soll erwähnt werden, daß Meyerhof, Lohmann und Meier (23, 6) im Gegensatz hierzu keine Steigerung des O_2-Verbrauchs bei Hungerlebern fanden sondern eher eine leichte Abnahme.

Der Durchschnittswert für den respiratorischen Quotienten der Hungertiere (Spalte 7) beträgt 0,702 und entspricht damit den

Werten, die bei vorwiegender Fettverbrennung gefunden werden. Der respiratorische Quotient der ernährten Tiere beträgt im Durchschnitt 1,19. Es handelt sich also mit größter Wahrscheinlichkeit bei dem Stoffwechsel der Hungertiere fast ausschließlich um Fettverbrennung, während in den Zellen der mit Milch und Brot ernährten Tiere hauptsächlich Glykogen abgebaut wird.

Auffallend sind bei manchen Parallelversuchen an demselben Tier die starken Unterschiede in der Größe und Art des Gaswechsels, sowohl bei Hungertieren als auch bei normal ernährten Ratten. Ein Grund für diese Differenzen kann wegen der gleichartigen Behandlung der Gewebsschnitte nicht angegeben werden. Ueber den Parallelismus zwischen diesen Differenzen und entsprechenden Unterschieden in der nachgewiesenen Milchsäuremenge soll noch weiter unten berichtet werden.

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist, kann die Grundfrage, die dieser Arbeit zu Grunde liegt, nämlich ob bei der Atmung unter aeroben Bedingungen stets Milchsäure nachgewiesen werden kann, auch wenn RQ kleiner als 1 ist, bejaht werden, denn es gelang in sämtlichen Versuchen mit der oben erwähnten Methode Milchsäure in der Suspensionsflüssigkeit quantitativ nachzuweisen (Spalte 8). Die kleinste Menge, die gemessen wurde (Versuch Nr. 35), betrug 16,2 γ, eine Menge, die nach den Angaben von Lehnartz (11) außerhalb des Bereichs der Fehlergrenze liegt.

Der Durchschnittswert für die pro mg Gewebe nachgewiesene Milchsäure bei den Lebern ernährter Tiere beträgt 18,6 γ gegen 13,25 g bei den Hungertieren (Spalte 9). Da wir aus der Größe der respiratorischen Quotienten festgestellt haben, daß die Milch-Brot-Tiere in ihren Lebern vorwiegend Kohlehydrate abbauen, während die Hungertiere anscheinend nur Fett verbrennen, so ist die Zunahme der Milchsäuremenge mit größter Wahrscheinlichkeit auf Glykogenspaltung zurückzuführen. Durch die entstandene Milchsäure kommt es zu einer Austreibung der Kohlensäure aus dem Natriumbikarbonat der Ringerlösung und zu einer Steigerung des wahren zum scheinbaren respiratorischen Quotienten.

So erklärt sich der höhere respiratorische Quotient der normal ernährten Tiere einerseits durch die Kohlehydratverbrennung,

andererseits als Wirkung der durch Glykolyse entstehenden Milchsäure.

Die Durchschnittswerte für den respiratorischen Quotienten, 0,70 bei Hungertieren und 1,19 bei Normaltieren, entsprechen in unseren Versuchen denen von Meyerhof und Lohmann (6) (ca. 0,7 bzw. 1,1), doch ist zu bemerken, daß M. und L. nur 24 Stunden hungern ließen.

Außer den Beziehungen zwischen Milchsäuremenge und respiratorischem Quotienten ergibt sich noch ein Zusammenhang mit der Atmungsgröße, d. h. der Menge an verbrauchtem Sauerstoff. Sucht man nämlich Versuche mit nahezu gleich großem respiratorischem Quotienten heraus und vergleicht sie untereinander, so kann man feststellen, daß bei steigender Milchsäuremenge auch die Menge an verbrauchtem Sauerstoff ansteigt. Gerade bei den schon erwähnten Parallelversuchen, die erhebliche Unterschiede in Größe und Art der Atmung aufweisen, zeigen sich gleichfalls entsprechende Schwankungen in der nachgewiesenen Milchsäuremenge. Meyerhof, Lohmann und Meier (23, 6) haben ebenfalls durch Milchsäurezusatz zur Ringerlösung den Sauerstoffverbrauch von Hungerratten fast auf das Doppelte erhöhen können und führen auch die Atmungssteigerrung von Leberschnitten in Serum hauptsächlich auf den Milchsäuregehalt des Serums zurück.

Wenn man zahlenmäßig die Werte für die Milchsäuremenge, den respiratorischen Quotienten und den Sauerstoffverbrauch vergleicht, so ergibt sich zwar keine mathematisch exakte Proportion, aber doch eine gewisse Beziehung zwischen Milchsäuremenge und dem Produkt aus Sauerstoffverbrauch und respiratorischem Quotienten; wird ein Faktor größer, so wird auch der Milchsäurewert größer. Warum das eine Mal ein vermehrter Gehalt an Milchsäure von einer Steigerung des Sauerstoffverbrauchs begleitet wird ohne auffallende Erhöhung des respiratorischen Quotienten, ein anderes Mal aber nur der respiratorische Quotient durch Kohlensäureaustreibung erhöht wird bei gleichbleibendem Sauerstoffverbrauch, soll weiter unten besprochen werden.

Aus Spalte 10 sind die manometrisch errechneten Milchsäuremengen ersichtlich. Es ergibt nach Warburg (4) die pro mg Gewebe und Stunde gebildete cmm Extrakohlensäure multipliziert mit 0,004 die pro mg und Stunde gebildete Milchsäure-

menge in mg. Die Methode, die für die anaerobe Glykolyse hinreichend gute Uebereinstimmung mit den chemischen Methoden ergibt (Rosenthal und Lasnitzki (7)), ist bei den Versuchen unter aeroben Bedingungen natürlich völlig unzuverlässig, da diejenigen Mengen Milchsäure, die benötigt werden, um den respiratorischen Quotienten durch Kohlensäureaustreibung aus dem Bikarbonat der Ringerlösung von seiner ursprünglichen Größe bis zum Wert 1,0 zu steigern, nicht erfaßt werden. So erklären sich zum Teil die großen Unterschiede zwischen der titrimetrisch bestimmten Milchsäuremenge und der manometrisch berechneten in den meisten Versuchen.

Einige Versuche zeigen aber trotzdem eine leidliche Uebereinstimmung der beiden auf verschiedene Weise gewonnenen Milchsäurewerte:

Versuch Nr. 26:	chemisch	23,95 γ,	manometrisch	23,2 γ
Versuch Nr. 31:	chemisch	17,70 γ,	manometrisch	14,8 γ
und	chemisch	22,21 γ,	manometrisch	20,0 γ
Versuch Nr. 33:	chemisch	21,65 γ,	manometrisch	18,8 γ
und	chemisch	24,05 γ,	manometrisch	23,2 γ

Es ist bemerkenswert, daß diese Versuche diejenigen sind, die den höchsten respiratorischen Quotienten aufweisen. Bei Versuch Nr. 23, der den nächst kleineren respiratorischen Quotienten zeigt, ist der Unterschied schon wesentlich größer, wenn auch eine leidliche Beziehung des manometrischen zum titrimetrischen Wert noch besteht:

chemisch 14,65, manometrisch 10,0, γ
und chemisch 19,27, manometrisch 12,8. γ

Wie oben festgestellt wurde, kann sich eine erhöhte Milchsäuremenge in zweierlei Weise auf Größe und Art der Atmung auswirken, einmal geht sie mit einer Steigerung der Kohlensäureproduktion, und damit Erhöhung des respiratorischen Quotienten, zum andern mit einer Steigerung des Sauerstoffverbrauchs einher; beide Vorgänge sind wahrscheinlich stets miteinander kombiniert. Die drei erwähnten Versuche (Nr. 26, 31, 33), bei denen eine

gute Uebereinstimmung zwischen titrimetrischen und manometrischen Milchsäurewerten besteht, zeigen besonders deutlich den ersteren Reaktionsmodus, d. h. die gebildete Milchsäure hat durch Kohlensäureaustreibung aus der Ringerlösung zu einem relativ hohen Wert für den respiratorischen Quotienten geführt.

Seit den Versuchen von Meyerhof, Lohmann, Meier und Takane (6, 14, 23) wissen wir, daß bei Laktatzusatz zur Ringerlösung, besonders bei Hungertieren, eine Steigerung des Sauerstoffverbrauches zustande kommt, die auf einer Umwandlung von Milchsäure in Kohlehydrate in der Leber beruht. Diese Umwandlung soll nach Meyerhof-Lohmann (6) dadurch gefördert werden, daß in der glykogenverarmten Hungerleber eine besonders starke Tendenz zum Kohlehydrataufbau vorhanden ist. Dieselbe Tendenz ist aber ebenfalls, wenn auch in geringerem Maße, in der Leber normal ernährter Tiere vorhanden. Auch in unseren Versuchen ist der Sauerstoffverbrauch der Hungerleber im Durchschnitt höher als bei der Leber ernährter Tiere, und umgekehrt die nachgewiesene Milchsäuremenge kleiner, weil, wie der respiratorische Quotient zeigt, kein Glykogen abgebaut wird und zur Glykolyse kommt, sondern eine vorwiegende Fettverbrennung stattfindet.

Je nachdem nun in dem betreffenden Leberschnitt die Tendenz zum Kohlehydrataufbau vorhanden ist, wird ein größerer Gehalt an Milchsäure im Gaswechsel zu einer Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs führen, die Milchsäure also eine „physiologische" Wirkung auf das Lebergewebe ausüben. Umgekehrt, je geringer diese Tendenz zum Kohlehydrataufbau ist, desto mehr wird die Milchsäure sich auf ihre rein „chemische" Wirkung, die Austreibung der Kohlensäure aus dem Bikarbonat der Ringerlösung, beschränken.

Zusammenfassung.

1. Es wird der Atmungsstoffwechsel von überlebenden Rattenleberschnitten unter aeroben Bedingungen bei hungernden und normal ernährten Tieren nach der Warburgschen Methode untersucht. Anschließend werden in der Suspensionsflüssigkeit Milchsäurebestimmungen ausgeführt und der Glykogengehalt der Lebern festgestellt.

2. Als Durchschnittswert für den Leberglykogengehalt finden wir bei den Hungerratten 0,27 g%, bei den Milch-Brot-Tieren 2,89 g%. Die Streuung der Einzelwerte bei den verschiedenen Ernährungsarten ist recht erheblich und kann vielleicht teilweise durch den Geschlechtsunterschied erklärt werden.

3. Der durchschnittliche Sauerstoffverbrauch der Hungerleber ist größer als der der normalen Leber (15,15: 12,15).

4. Der Durchschnittswert für den respiratorischen Quotienten beträgt bei den Hungertieren 0,70, bei den Milch-Brot-Tieren 1,19. Während die hungernden Tiere anscheinend nur Fett verbrennen, werden im normalen Leberstoffwechsel vorwiegend Kohlehydrate abgebaut.

5. In sämtlichen Fällen wird nach Beendigung des Atmungsversuches in der Suspensionsflüssigkeit Milchsäure nachgewiesen. Als Durchschnittswert für die pro mg Lebergewebe gefundene Milchsäure ergibt sich bei den Hungertieren 13,25 γ und bei den normal ernährten Tieren 18,6 γ. Die größere Milchsäuremenge bei den Milch-Brot-Tieren wird durch Glykogenspaltung erklärt und bedingt ein Ansteigen des respiratorischen Quotienten durch Kohlensäureaustreibung aus dem Natriumbikarbonat der Ringerlösung.

6. Je größer die nachgewiesene Milchsäuremenge ist, desto größer ist einerseits der Sauerstoffverbrauch der Leberschnitte, andererseits der respiratorische Quotient.

Tabelle 1.

Hungertiere (48 Std.)

Datum	Nr.	Tiergewicht in g	Lebergewicht in g	Leber : Körper in %	Frisch : trocken	Leberglykogen in g%
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
17. 6. 32	17	90	3,6432	4,04	—	—
22. 8.	30	105	3,7304	3,55	5,89	0,686
15. 8.	25	120	3,8110	3,18	3,64	0,098
17. 8.	27	120	4,0660	3,38	3,82	0,180
18. 8.	28	120	3,7136	3,09	3,4	0,114
24. 8.	34	130	4,9088	3,78	5,51	0,107
19. 8.	29	140	3,8950	2,78	3,76	0,145
24. 8.	35	140	5,4916	3,92	4,27	0,556
				3,46	4,33	0,269

Milch-Brot-Tiere.

16. 6. 32	16	72	2,0746	2,88	—	0,318
23. 8.	32	90	3,4102	3,79	3,7	2,563
23. 8.	33	100	4,1292	4,13	3,49	6,82
16. 8.	26	125	6,9868	5,58	3,46	4,69
10. 8.	23	135	6,1212	4,53	3,8	0,867
22. 8.	31	145	5,6884	3,92	3,99	4,87
9. 8.	22	160	6,4784	4,05	3,5	0,884
				4,13	3,66	3,002

Tabelle 2.

Hungertiere (48 Std.)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Nr.	Glykogen in g %	Vorbereitungszeit Minuten	Dauer d. Warbg.-Versuches Minuten	Q_{O_2}	Q_{CO_2}	RQ	absol. Menge MS in γ	MS. (reduz.) in γ chem.	MS in γ manometrisch	Schnittgewicht in mg
17	—	25	80	10,7	7,9	0,74	22,5	4,71	0	8,6
25	0,0985	25	60	16,8	13,2	0,78	24,3	16,02	0	3,41
				16,4	11,2	0,68	27,0	15,80	0	3,85
27	0,1797	27	60	14,0	10,2	0,73	45,9	14,10	0	7,33
				13,4	9,7	0,73	29,7	13,86	0	4,82
28	0,1138	25	60	15,0	10,15	0,68	48,6	13,52	0	8,08
				24,0	20,2	0,84	27,0	23,54	0	2,58
29	0,1447	28	60	15,4	11,3	0,73	21,6	14,72	0	3,30
30	0,686	22	60	21,6	16,6	0,77	27,0	19,67	0	3,09
				10,0	6,7	0,67	17,1	11,19	0	3,44
34	0,1073	26	60	15,2	8,6	0,57	25,2	6,82	0	8,31
35	0,556	26	60	9,7	4,8	0,5	16,2	4,02	0	9,05
				14,8	10,4	0,7	34,2	14,32	0	5,37
	0,269 g % durchschn.			15,15		0,702		13,25		

Milch-Brot-Tiere.

14	0,306	26	60	16,6	15,6	0,94	63,0	19,68	0	7,2
				15,7	13,5	0,86	79,6	17,13	0	5,2
16	0,318	20	80	15,4	16,0	1,04	99,9	16,20	2,4	11,1
20	—	33	80	16,6	13,6	0,82	70,2	16,23	0	6,49
22	0,884	25	80	6,5	6,7	1,03	28,8	9,18	0,8	5,65
				7,7	8,0	1,04	24,3	10,80	1,2	4,05
23	0,867	25	60	8,5	11,0	1,29	56,7	14,65	10,0	8,70
				13,3	16,5	1,24	95,4	19,27	12,8	11,13
24	4,74	25	60	12,6	14,8	1,15	41,4	20,45	8,8	4,55
				12,1	14,1	1,17	54,0	18,20	8,0	6,67
26	4,69	25	60	7,8	13,6	1,74	35,1	23,95	23,2	3,30
31	4,87	24	60	10,0	13,7	1,37	64,8	17,70	14,8	8,24
				15,0	20,0	1,33	54,9	22,21	20,0	5,56
32	2,563	25	60	17,8	18,6	1,04	30,6	20,15	3,2	3,42
				13,6	13,7	1,01	36,9	17,22	0,4	4,82
33	6,82	25	80	6,8	11,5	1,69	118,0	21,65	18,8	9,80
				10,5	16,3	1,54	123,3	24,05	23,2	9,23
	2,895 g % durchschnittl.			12,15		1,195		18,6		

Hiermit möchte ich Herrn Prof. Dr. H. Zondek für die freundliche Ueberlassung des Themas, Herrn Dr. L. Wislicki für die liebenswürdige Anleitung und für die Aufsicht beim experimentellen Teil und Herrn Oberarzt Priv.-Doz. Dr. H. W, Bansi für die Auswertung der Ergebnisse meinen Dank aussprechen.

Literatur.

1. O. Meyerhof: Chem. Vorgänge im Muskel. 1930.
2. O. Warburg: Ueber den Stoffwechsel der Tumoren. 1926.
3. O. Meyerhof: Erg. Physiol. 22, 299 (1923).
4. Warburg: Bioch. Zeitschr. 152, 51 (1924).
5. Warburg, Posener u. Negelein: Biochem. Zeitschr. 152, 309 (1924).
6. Meyerhof u. Lohmann: Bioch. Zeitschr. 171, 381 (1926).
7. Rosenthal u. Lasnitzki: Bioch. Zeitschr. 196, 340 (1928).
8. Embden u. Kraus: Bioch. Zeitschr. 45, 1 (1912).
9. Rosenthal: Bioch. Zeitschr. 207, 263 (1929).
10. Krebs: Messung der Atmung und Gärung in Oppenheimer u. Pinkussen. Die Fermente und ihre Wirkungen III. Bd. Methodik der Fermente S. 635 ff.
11. Lehnartz: Zeitschr. f. physiol. Chemie 179, 1 (1928).
12. Pflüger: in Abderhalden: Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden Bd. 2, 1070.
13. Forsgren: Skandinav. Arch. f. Physiologie 55, 144 (1929).
14. Takane: Bioch. Zeitschr. 171, 403 (1926).
15. Vaudin, Javillier, Allaire u. Schirmer: Bull. Soc. Chim. biol. Paris 12, 894 (1930). Dtsch. Zusammenfassung: Kongr. Zentrbl. f .d. ges. Inn. Med. 63, 250 (1931).
16. Fisher u. Lackey: Americ. Journ. of Physiol. 72, 43 (1925). Dtsch. Zusammenfassung: Ronas Berichte f .d. ges. Physiol. 31, 562, (1925).
17. Holzmann: Jahrb. f. Kinderheilk. 127, 89 (1930).
18. Hynd u. Rotter: Bioch. J. 24, 1390 (1930). Zusammenfassung: Ronas Berichte 61, 477 (1931).
19. Lawrence u. Mc Cance: Bioch. J. 25, 570 (1931). Kongr. Ztr.-Bl. 64, 752 (1931/32).
20. Donaldson: The rat.
21. Rathery, Kourilsky u. Gibert: C. r. Soc. Biol. Paris 103, 305 (1930). Kongr. Zentrbl. 60, 438 (1931).
22. Greisheimer,: J. Nutrit. 4, 411 (1931). Kgrs. Zbl. 66, 203 (1932).
23. Meyerhof, Lohmann u. Meier: Bioch. Zeitschr. 157, 459 (1925).

Lebenslauf.

Am 7. 12. 1908 wurde ich in Berlin-Pankow als Sohn des Verwaltungsdirektors Hermann Gebert geboren und in der evangelischen Konfession erzogen. Von Ostern 1915 bis Oktober 1917 besuchte ich das Realgymnasium in Berlin-Pankow, von Oktober 1917 ab das Friedrichs-Realgymnasium in Berlin, wo ich am 16. März 1927 die Reifeprüfung bestand.

Die 5 klinischen Semester des medizinischen Studiums verbrachte ich in Berlin, die ersten beiden klinischen Semester in Innsbruck und Wien, die restlichen 4 Semester wieder in Berlin ,wo ich am 27. Januar 1933 das medizinische Staatsexamen ablegte.

Im Februar und März 1933 arbeitete ich als Medizinalpraktikant am Urbankrankenhaus-Berlin, wurde am 1. April 1933 zum Infanterie-Regiment Nr. 9 nach Spandau-Ruhleben einberufen und bin seit dem 1. Oktober 1933 als Unterarzt in der 1. (Pr.) Sanitätsabteilung am Standortlazarett Insterburg (Ostpr.) tätig.